

**KOMPONEN METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
Spirulina fusiformis YANG DIKULTUR PADA MEDIA CAMPURAN
(PUPUK R1, UREA DAN KATALIS)**

**SECONDARY METABOLITE COMPONENTS AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES OF *Spirulina fusiformis* CULTURED IN MIXED MEDIA
(FERTILIZER R1, UREA AND CATALYST)**

Nabila Ukhty

Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Aceh Barat
Korespondensi : nabilaukhty@utu.ac.id

abstract

Spirulina fusiformis is one of blue algae which can produce phycocyanin pigments. In this study used a mixed media consists of fertilizer R1, urea and catalyst as a medium for microalgae growth. This study aims to determine the growth rate, secondary metabolite component and antioxidant activity of *S. fusiformis* which was cultivated in a mixture media consists of fertilizer R1, urea and catalysts. *S. fusiformis* was cultured for 21 days. Based on the results of the study, it is known that *S. fusiformis* culture experienced five stages of growth. The logarithmic phase occurs on the 3rd day until the 10th day, the stationary phase occurs on the 10th day to the 15th day, and the death phase occurs on the 20th day. *S. fusiformis* biomass harvested on the 12th day contained alkaloids, flavonoids, saponins and steroids. The biomass antioxidant activity of *S. fusiformis* harvested on the 12th day had IC₅₀ tilapia of 1937.41 ppm.

Keywords: DPPH, Growth Rate, Secondary Metabolite, *Spirulina fusiformis*

I. Pendahuluan

Mikroalga merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki potensi besar untuk dijadikan sumber pangan karena selain mudah dikembangkan juga memiliki kandungan nutrisi yang tinggi terutama kandungan proteinnya. Salah satu jenis mikroalga yang saat ini menjadi perhatian dalam bidang pangan dan nutrasetikal adalah *Spirulina*. Mikroalga ini mampu menghasilkan pigmen fikosianin berwarna biru yang berpotensi digunakan sebagai pewarna alami. Sebagai pewarna alami, pigmen fikosianin juga berpotensi menjadi pewarna untuk produk kosmetika yang bernilai jual tinggi. Contoh produk yang telah mereka kembangkan adalah *lipstick* dan *eyeliners* (Spolaore *et al.* 2006).

Fikosianin, seperti pigmen alami pada umumnya, dapat mengalami kerusakan akibat suhu tinggi. Larutan fikosianin mengalami pemudaran warna sebesar 30% setelah penyimpanan 5 hari dan menjadi bening setelah 15 hari pada suhu 35 oC (Mishra *et al.* 2008). Selain itu, fikosianin bertindak sebagai antioksidan atau penangkal radikal bebas.

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menunda atau mencegah oksidasi lemak atau molekul lain dengan cara menghambat terjadinya proses inisiasi atau propagasi reaksi rantai oksidatif. Antioksidan saat ini banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan. Antioksidan yang paling umum digunakan saat ini pada bahan pangan adalah antioksidan sintetik, seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT), *butylated*

hydroxyanisole (BHA), *propil galat* (PG) dan *tertbutyl hydroquinone* (TBHQ). Penggunaan antioksidan sintetik dapat beresiko terhadap kesehatan karena memiliki aktivitas di dalam tubuh yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit karsinogenetik (Lahucky *et al.* 2010). Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang diekstrak dari biomassa kering *Spirulina fusiformis*. Hal ini diharapkan dapat memberikan informasi serta perkembangan ilmu pengetahuan tentang kandungan senyawa aktif yang terdapat pada *Spirulina fusiformis*.

II. Metode Penelitian

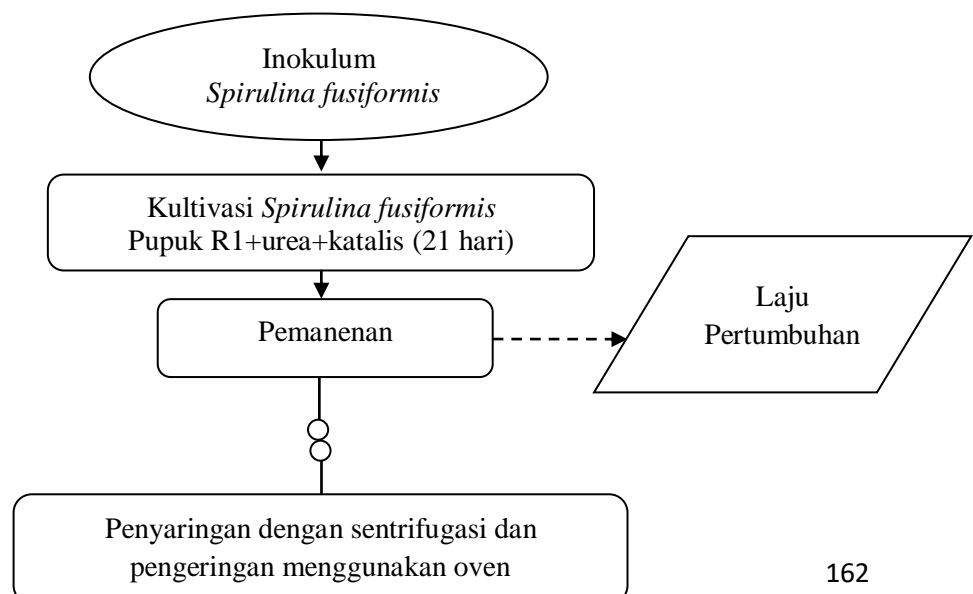
2.1 Bahan dan Alat

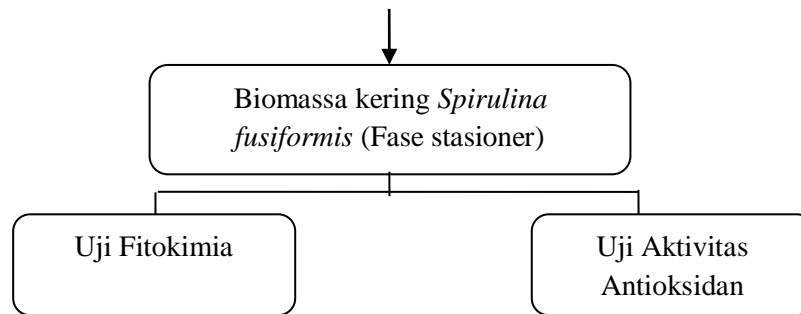
Bahan utama yang digunakan yaitu *Spirulina fusiformis* yang diperoleh dari LIPI Cibinong. Bahan yang digunakan untuk kultivasi mikroalga antara lain air laut, air tawar, pupuk R1, urea, dan katalis. Bahan untuk pengujian aktivitas antioksidan, yaitu metanol dan kristal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk uji fitokimia meliputi pereaksi Wagner, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendroff (uji alkaloid), kloroform, anhidra asetat, asam sulfat pekat (uji steroid), serbuk magnesium, amil alkohol (uji flavonoid), air panas, larutan HCl 2 N (uji saponin) dan etanol 70%, larutan FeCl₃ 5% (uji fenol hidrokuinon).

Alat-alat yang digunakan untuk kultivasi antara lain, Erlenmeyer, akuarium, pipet volumetrik, pipet tetes, autoclave, spektropotometer, selang aerasi dan aerator. Alat-alat yang digunakan untuk pengujian fitokimia dan aktivitas antioksidan antara lain, gelas ukur, tabung reaksi, piper mikro, pipet volumetrik, vortex, timbangan digital, spatula, incubator dan spektrofotometer UV-VIS *Hitachi U-2800*.

2.2 Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu, tahap pertama kultivasi mikroalga, tahap kedua pemanenan mikroalga dan tahap terakhir yaitu analisis biomassakering yang meliputi fitokimia, fikosianin, aktivitas antioksidan dan kandungan protein. Berikut tahapan pengamatan dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.





Gambar 1 Diagram alir proses

2.1.1 Kultivasi dan Pemanenan *Spirulina fusiformis*

Kultivasi *Spirulina Fusiformis* bertujuan untuk memperoleh biomasa *Spirulina* dalam bobot basah. Pada penelitian ini, *Spirulina fusiformis* dikultur selama 21 hari (3 minggu). Tahapan pada kultivasi *Spirulina Fusiformis* adalah kultur bibit *Spirulina* sebanyak 200 ml, media kultur yang digunakan R1, urea dan katalis. Setelah 7 hari di *scale up* ke volume 1 L dan 2 L dengan perbandingan air dan bibit 4:1 dan penambahan pupuk sebanyak 1 ml/L. Pemanenan *Spirulina* pada tahap ini dilakukan selama 14 hari dan dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) untuk melihat laju pertumbuhan *Spirulina*. Setelah 14 hari, kultur mikroalga di *scale up* kembali ke volume 8 L dan dikultur selama 1 minggu. Setelah itu dilakukan pemanenan dengan metode penyaringan sentrifugasi dan diperoleh biomassa *Spirulina* dalam bobot basah pada fase stasioner. Setelah itu Biomassa dikeringkan dengan menggunakan oven untuk mendapatkan biomassa kering.

2.1.2 Uji fitokimia (Harborne 1987)

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada biomassa *Spirulina fusiformis* yang memiliki aktivitas antioksidan yang terbaik. Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, triterpenoid/steroid, saponin dan flavonoid dan fenol hidrokuinon. Biomassa *Spirulina fusiformis* yang digunakan untuk pengujian fitokimia adalah biomassa yang dipanen pada fase stasioner, atau pada usia panen 12 hari.

2.1.3 Uji aktivitas antioksidan dengan Metode DPPH (Salazar-Aranda *et al.* 2009)

Biomassa kering *Spirulina fusiformis* yang dipanen pada fase stasioner (12 hari) direndam atau dimaserasi dalam pelarut metanol (polar) dengan konsentrasi 1000 ppm selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran ke dalam konsentrasi 800, 600, 400 dan 200 ppm. Larutan DPPH yang akan digunakan, dibuat dengan melarutkan kristal DPPH dalam pelarut etanol dengan konsentrasi 1 mM.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan kemampuan sampel yang digunakan dalam mereduksi radikal bebas stabil DPPH. Selanjutnya 0,0079 g DPPH

diencerkan dengan 20 ml etanol. Setelah itu, dilakukan pengisian ekstrak dengan beberapa konsentrasi dan penambahan larutan DPPH dengan perbandingan larutan DPPH dan sampel adalah 1: 9. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 517 nm.

Persentase penghambatan aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel. Persamaan regresi diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan presentase penghambatan aktivitas radikal bebas. Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC₅₀) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan memasukkan Y=50 serta nilai a dan b yang telah diketahui. Nilai x sebagai IC₅₀ dapat dihitung dengan persamaan :

$$y = a + b (x)$$

Keterangan : y = persen inhibisi

a = *slope*

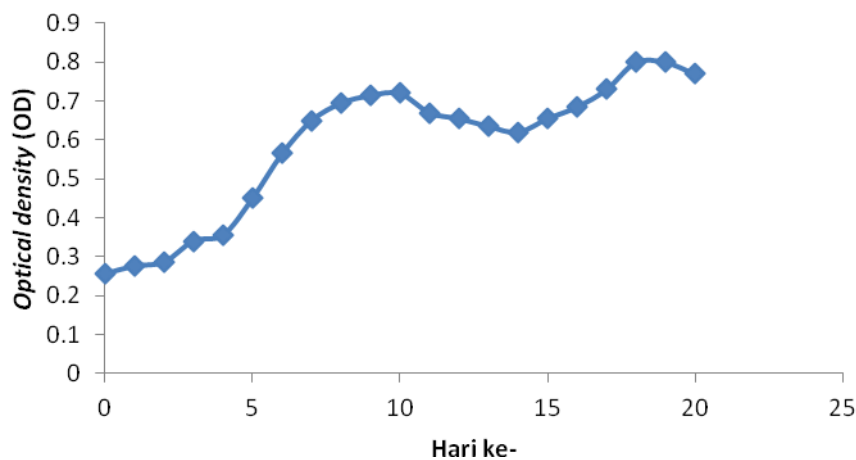
b = *intercept*

x = konsentrasi sampel (mg/L)

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Laju Pertumbuhan *Spirulina fusiformis*

Pertumbuhan merupakan peningkatan jumlah sel dan komponen esensial dalam siklus hidup. Pertumbuhan mikroalga pada kultur dapat ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambahnya jumlah sel. Perkembangan sel dalam kultur mikroalga terdiri atas lima fase yaitu fase lag (adaptasi), fase eksponensial (logaritmik), fase penurunan laju pertumbuhan (deklinasi), fase stasioner dan fase kematian (Carlile *et al.* 2001). Fase pertumbuhan setiap organisme tidak selalu tetap. Perbedaan panjang atau kemiringan kurva pertumbuhan ditentukan oleh kondisi umum kultur. Keberagaman fase pertumbuhan menggambarkan perubahan kondisi lingkungan dan tergantung pada inokulum, metode kultivasi, konsentrasi nutrisi, intensitas cahaya, dan suhu (Becker 1994). Kurva pertumbuhan *Spirulina fusiformis* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Laju Pertumbuhan *S.fusiformis* yang dikultivasi selama 21 hari

Penambahan pupuk R1, urea dan katalis menunjukkan bahwa pertumbuhannya tidak stabil. Pada hari ke 0 hingga ke 3 fase adaptasi terjadi ditandai dengan peningkatan OD yang tidak terlalu signifikan. Fase eksponensial terjadi pada hari ke 3-10 yang ditandai dengan peningkatan OD yang cepat. Pada Fase ini terjadi pertumbuhan sel yang sangat tinggi. Menurut Vonshak *et al.* (2004) fase eksponensial ditandai dengan mulai meningkatnya kepadatan sel. Fase pertumbuhan mikroalga kemudian mengalami fase antara pertumbuhan relatif dan kematian yang disebut sebagai fase stasioner pada hari ke 10-15. Pada fase ini terjadi keseimbangan pertumbuhan sel dimana fase kematian sebanding dengan pembelahan sel sehingga kepadatan sel relatif tetap (Widianingsih *et al.* 2008). Fase stasioner terjadi akibat keterbatasan intensitas cahaya yang mampu diserap oleh mikroalga. Jumlah energi cahaya yang mampu diserap melalui fotosintesis berkaitan dengan konsentrasi sel yang semakin melimpah hingga akhir fase log. Setelah konsentrasi sel mencapai maksimal, jumlah biomassa tetap sampai nutrisi dalam medium dan inhibitor menjadi faktor pembatas.

Pada hari ke 15 hingga hari ke 19 fase eksponensial kembali terjadi yang ditandai dengan peningkatan OD, hal ini diduga karena adanya peningkatan nutrisi dari mikroalga yang telah mengalami kematian sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroalga yang masih hidup. Hari ke 21 mikroalga mengalami fase kematian, kematian sel disebabkan oleh nutrisi dalam medium telah habis sedangkan sel yang masih hidup tidak mampu untuk tumbuh dan hanya dapat bertahan hidup (Carlile *et al.* 2001).

3.2 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder *Spirulina fusiformis*

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biomassa *Spirulina fusiformis* yang memiliki aktivitas antioksidan yang terbaik. Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, triterpenoid/steroid, saponin dan flavonoid dan fenol hidrokuinon. Kandungan fitokimia pada *Spirulina fusiformis* dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Senyawa Metabolit Sekunder *Spirulina fusiformis*

Uji Fitokimia	<i>Spirulina fusiformis</i> Kultur 12 hari
1. Alkaloid	
Mayer	-
Dragendorf	+
Wagner	+
2. steroid	+
3. flavonoid	+
4. saponin	+
5. fenol hidrokuinon	-

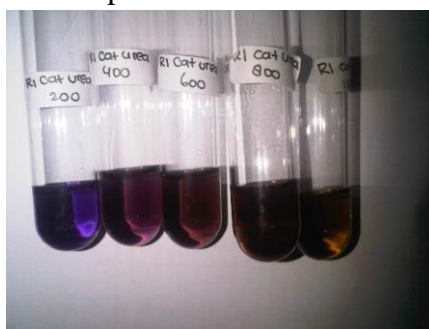
Secara umum, komponen fitokimia yang terdapat dalam mikroalga *Spirulina fusiformis* yang diamati meliputi alkaloid, steroid, flavonoid dan saponin. Metabolit

sekunder ini merupakan senyawa bioaktif yang dapat memberikan kesehatan pada tubuh manusia (Ramesha dan Srinivas 2014). Fitokimia mempunyai peran penting dalam penelitian obat yang dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan. *Spirulina fusiformis* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, antara lain alkaloid, steroid, dan saponin.

3.3 Aktivitas Antioksidan *Spirulina fusiformis* dengan Metode *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH)

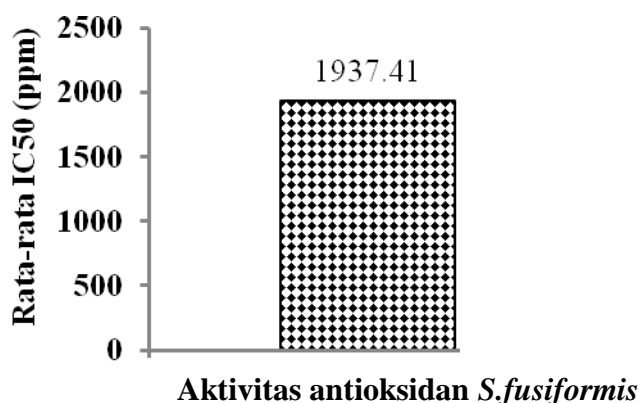
Secara kimia, pengertian senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (reduktan). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bias dihambat (Winarsi 2007). Ada tidaknya senyawa antioksidan dalam suatu bahan, dapat dideteksi dengan melakukan uji aktivitas antioksidan. Penangkapan radikal adalah mekanisme utama aktivitas antioksidan pada makanan, dimana aktivitas antioksidan diukur oleh penangkapan radikal sintetik pada pelarut organik pada temperatur kamar. Pengukuran aktivitas antioksidan *Spirulina fusiformis* menggunakan metode uji *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) (Molyneux 2004; Salazar-Aranda *et al.* 2009).

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan persentase penghambatan (inhibisi) yang diperoleh dari nilai absorbansi blanko dikurangi absorbansi sampel (Zheng *et al.* 2011). Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas yang digunakan (DPPH). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3, dimana terjadi perubahan warna pada DPPH yang telah ditambahkan sampel.



Gambar 3 Perubahan warna DPPH setelah ditambahkan sampel

Hasil dari metode DPPH diinterpretasikan dalam parameter IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*). Nilai IC_{50} dapat didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas, yaitu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar (Molyneux 2004). Nilai rata-rata IC_{50} *Spirulina fusiformis* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Nilai rata-rata IC₅₀ biomassa kering *Spirulina fusiformis*

Aktivitas antioksidan pada biomassa kering *Spirulina fusiformis* yang dikultur dengan pupuk R1, katalis dan urea sebesar 1937,41 ppm. Menurut Wang *et al.*(2007) perbedaan jenis spesies, perbedaan kondisi lingkungan tempat pembiakan, pH media, cahaya matahari, kandungan oksigen serta kandungan nitrogen akan mempengaruhi kandungan komponen senyawa yang bertindak sebagai antioksidan. Kumar *et al.*(2011) melaporkan bahwa peningkatan komponen-komponen antioksidan berkorelasi dengan terjadinya peningkatan jumlah sel kultur. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biomassa *Spirulina* yang digunakan maka semakin besar persentase penghambatan radikal bebas yang dihasilkan yang ditunjukkan dengan kenaikan nilai inhibisi.

Menurut Blois (1958) dalam Molyneux (2004), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 0,05mg/ml (50 ppm), kuat apabila nilai IC₅₀ antara 0,05-0,10 mg/ml (50-100 ppm), sedang apabila memiliki nilai IC₅₀ berkisar antara 0,10-0,15 mg/ml (100-150 ppm) dan lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 0,15-0,20 mg/ml (150-200 ppm). Berdasarkan klasifikasi diatas, ekstrak biomassa kering *Spirulina fusiformis* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah atau bisa dikatakan hampir tidak memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki nilai IC₅₀ diatas 1000 ppm. Hal ini dikarenakan tidak dilakukannya proses pengoptimalan ekstraksi, sehingga dimungkinkan senyawa aktif yang terdapat pada biomassa kering tidak terekstraksi secara maksimal.

IV. Kesimpulan

Spirulina fusiformis yang dikultur selama 21 hari memiliki lima tahapan fase pertumbuhan, yaitu fase logaritmik terjadi pada hari ke 3 hingga hari ke 10, fase stasioner terjadi pada hari ke 10 hingga hari ke 15, dan mengalami fase kematian pada hari ke 20. *Spirulina fusiformis* yang dipanen pada fase stasioner atau hari ke 12 pemanenan mengandung senyawa metabolit sekunder, diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid. Aktivitas antioksidan biomassa *S. fusiformis* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1937,41 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Becker EW. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. USA : Cambridge University Press. 293 hlm.
- Carlile J, Watkinson SC, Gooday GW. 2001. *The Fungi*. Ed ke-2. UK (GB): Elsevier Academic Press. 106-110.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia*. Kosasih Padmawinata, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.
- Kumar M, Kulshreshtha J, Singh G. 2011. Growth and pigment profile of *Spirulina platensis* isolated from Rajasthan, India. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 2(1):83-86
- Lahucky R, Nuernberg K, Kovac L, Bucko O, Nuernberg G. 2010. Assessment of the antioxidant potential of selected plant extracts In vitro and in vivo experiments on pork. *Journal of Meat Science* 85:779-784.
- Mishra SK, Shrivastav A, Mishra S. 2008. Effect of preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. *Process Biochemistry* 43:339–345.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology* 26(2):211-219.
- Ramesha A, Srinivas C. 2014. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts of endophytic fungi isolated from *Plumeria acuminata* L. and *Plumeria obtusifolia* L. *European Journal of Experimental Biology*. 4(2):35-43.
- Salazar-Aranda R, Perez-Lopez LA, Arroyo JL, Alanis-Garza BA, de Torres NW. 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast of Mexico. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 41(5):233-236.
- Spolaore P, Joannis-Carson C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial application of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering* 101(2):87-96.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina: growth, physiology and biochemistry*. Didalam V. Avigad (Ed). *Spirulina platensis* (Arthrospira). London : Taylor & Francis
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Zheng X, Liu B, Li L, Zhu X. 2011. Microwave-assisted extraction and antioxidant activity of total phenolic compounds from pomegranate peel. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(6):1004-1011.